(5.)

CORRADO DA FANO

Raccolta di materiale patologico per ricerche microscopiche

Estratto dalla *Rivista Sanitaria* n. 3 1906





CORRADO DA FANO

Raccolta di materiale patologico per ricerche microscopiche

Estratto dalla *Rivista Sanitaria* n. 3 1906







CORRADO DA FANO

RACCOLTA DI MATERIALE PATOLOGICO PER RICERCHE MICROSCOPICHE

Sembrerà a tutta prima che l' argomento di questo breve articolo non sia in armonia cogli intenti eminentemente pratici della *Rivista Sanitaria;* il medico pratico non ha, il più delle volte, nè il tempo nè i mezzi scientifici adatti per dedicarsi allo studio microscopico di pezzi patologici sia pure di grande interesse.

Il redattore di questo modesto articolo non si propone però d' esporre un capitolo di tecnica istologica ma d' indicare più semplicemente i mezzi più convenienti per conservare pezzi patologici pei quali sia interessante e necessaria un' ulteriore indagine microscopica. Se il pratico non ha il tempo, l' istrumentario, l' ambiente indispensabili per ricerche d' istologia patologica, non è meno interessante per lui il conoscere come si conservi il materiale patologico in guisa da poterlo finamente studiare in progresso di tempo, sia direttamente, sia affidandolo a qualche laboratorio.

Quando si rifletta alle grandi difficoltà di fronte alle quali spesso si trovano anche patologi provetti nell' interpretazione di preparati pur allestiti con ogni cura, sarà facile comprendere quanto grandi e molteplici divengano le cause d' errore quando si debbano rivolgere le proprie ricerche su materiale alterato o per processi d' iniziale pu-

trefazione o per conservazione del materiale stesso in liquidi che non permettano più quelle delicate e fini ricerche che la tecnica isto-patologica nel suo quotidiano perfezionarsi consente e richiede. Al redattore di questo articolo capitò più volte, per esempio, di veder giunger nel laboratorio, per ulteriori ricerche microscopiche, tumori cacciati a forza in barattoli troppo piccoli, con pochissimo liquido fissante e talmente malconci che il giudizio diagnostico, pur assai interessante anche pel clinico era divenuto incerto e di conseguenza pressochè inutile.

Per la buona conservazione del materiale valgono anzitutto alcune norme generali:

1) Il materiale deve essere raccolto nelle condizioni della maggior freschezza possibile.

2) I pezzi devono essere immersi direttamente nella miscela fissatrice senza lavarli preventivamente in acqua.

3) Non occorre che i pezzi siano in gran numero; di solito ne bastano pochi purchè scielti opportunamente e tagliati con una certa regolarità.

4) È necessario che i pezzi siano piuttosto piccoli per facilitare la penetrazione del liquido fissatore; se si vuol avere sezioni di una certa ampiezza sarà opportuno ridurre il materiale in fette larghe ma sottili; se per ragioni di orientamento si vuol conservare intero un pezzo patologico piuttosto grande sarà pure bene praticarvi qua e là alcuni tagli con un rasoio affinchè la miscela fissatrice penetri rapidamente nell' interno del pezzo.

5) Il liquido nel quale i pezzi vengono immersi deve essere piuttosto abbondante; avendone l' opportunità sarà bene cambiarlo almeno una volta dopo una preventiva grossolana fissazione del materiale.

6) Se i pezzi debbono essere inviati a qualche laboratorio od affidati ad un collega e sopratutto se si tratta

di tumori, sarà bene unire sia qualche notizia clinica, sia qualche indicazione riguardante l'aspetto macroscopico del pezzo patologico (forma, grandezza, aspetto, consistenza, peso).

Premesse queste norme d' indole generale, torna ora opportuno accennare quali liquidi siano da preferirsi per conservare i pezzi patologici. Io mi limiterò ad indicare solo alcune delle miscele fissatrici più in uso e valevoli per tutti o quasi tutti i tessuti, giacchè il diffondersi in maggiori particolari oltre ad esorbitare dai limiti e dallo scopo di questo modesto articolo, riuscirebbe anche inutile pel pratico, al quale non è sempre facile avere molti dei reagenti che di giorno in giorno sono andati introducendosi nella tecnica istologica.

Fra le miscele fissatrici più alla mano del pratico prima di tutte deve porsi la formalina del commercio, la quale è una soluzione acquosa al 40 $^0/_0$ di aldeide formica. Essa più che un fissante, deve considerarsi come un liquido conservatore, il quale, pur mantenendo inalterato il materiale per lunghissimo tempo, ne permette inoltre una successiva fissazione con altri liquidi quando si voglia procedere ad un suo più minuto esame. La formalina del commercio offre ancora il vantaggio di un costo assai mite e di essere alla portata di ognuno ; la più modesta farmacia essendone infatti sempre provvista. Si è soliti servirsi di una soluzione al 10-15 $^0/_0$ di formalina del commercio ; una concentrazione però alquanto più grande o più piccola, non nuoce. Non è necessario che i pezzi siano estremamente piccoli; essa al contrario può servire per conservare anche interi organi nei quali con opportuni tagli si sia facilitata, come sopra dissi, la penetrazione del liquido.

Quando si tratta però di conservare ossa o tumori ossei o si voglia avere una buona fissazione del materiale, saranno da preferirsi alla formalina altri liquidi.

Nel primo caso (ossa) serve assai bene il liquido di Müller (bicromato di potassa p. 2; solfato di potassa p. 1; acqua p. 100). I pezzi debbonono rimanere nel liquido molto tempo (1 mese): il liquido deve essere cambiato di tanto in tanto.

Nel secondo caso, quando si desideri cioè fissare subito e bene pezzi importanti, la scelta del fissatore è difficile potendo variare da organo ad organo, non solo, ma anche a seconda delle ricerche che ci si propone d'intraprendere. Io mi limiterò ad indicare due dei migliori e più usati fissanti della ternica microscopica: il liquido di Zenker, e quello di Flemming.

Il liquido di Zenker oltre ad essere un buonissimo fissatore può essere usato abbastanza ampiamente; serve infatti assai bene per gli organi ghiandolari in genere, pel midollo osseo, per tumori, per pezzi di sistema nervoso di animali idrofobi. Esso si prepara secondo la seguente formula: liquido di Müller gr. 100; sublimato corosivo gr. 5; aggiungi 5 $^0/_0$ di acido acetico al momento dell'uso. I pezzi debbono essere piuttosto piccoli ed esser lasciati nel fissante 12-24 ore; vengono poi lavati in acqua corrente per altre 24 ore ed infine raccolti in alcool ad 80° dove possono rimanere anche lunghissimo tempo.

Quanto al liquido di Flemming, è opportuno ricordare che esso presenta i vantaggi ed i difetti delle miscele osmiche. Se esse rappresentano pur sempre i migliori fissatori del protoplasma cellulare sono anche poco pratiche e pochissimo adatte per la rapida diagnosi di alterazioni patologiche, il che appunto più preme al medico ed al chirurgo.

Le miscele osmiche oltre al esser costose, hanno uno scarsissimo potere di penetrazione e fissano quindi completamente solo pezzi molto piccoli. Inoltre il tempo di

fissazione può e deve variare a seconda della natura e dimensioni dell' obbietto; infine l' esecuzione delle sezioni e la loro colorazione richiedono già una discreta abilità tecnica.

Il liquido di Flemming è una delle miscele osmiche più usate; come altre simili fissa non solo ottimamente i nuclei ed i protoplasmi cellulari, ma tinge inoltre in nero alcune sostanze grasse o simili ai grassi; può quindi servire bene per la dimostrazione di fenomeni degenerativi cellulari. Nel laboratorio di patologia generale dell' Università di Pavia, si è trovato vantaggioso e pratico il tener pronta una miscela così composta: soluzione di acido cromico al 2 % p. 7,5; acqua p. 3,5; acido acetico p. 1. Al momento dell' uso si aggiungono due parti di una soluzione all' 1 % di acido osmico.

I pezzi rimangono nel fissante di solito da 12 a 24 ore; vengono poi lavati in acqua corrente e conservati in alcool a 80° per ulteriore trattazione come i pezzi fissati nel liquido di Zenker.

Chiuderò quest' articolo con un' importante avvertenza: Quando nel materiale patologico si desideri praticare la ricerca di microrganismi (p. es. dei bacilli tubercolari), ad ogni altro fissante bisogna preferire l' alcool assoluto od a 95-96°.

Milano, Febbraio 1906.